

KOREAN PATENT ABSTRACT (KR)

PUBLICATION

- (51) Int. Cl. : G01N 35/00
(11) Publication No.: P2002-0043553 (43) Publication Date: 10 June 2002
(21) Application No.: 10-2002-7001852 (22) Application Date: 9 February 2002
(86) International Application No.: PCT/US2000/40620
International Application Date: 10 August 2000
(87) International Publication No.: WO 2001/12327
International Publication Date: 22 February 2001
(71) Applicant: UT-BATTELLE, LLC
Oak Ridge National Laboratory, P.O.Box 2008, Oak Ridge MS 6498,
37831-6498, Tennessee, U.S.A.
(72) Inventor: RAMSEY, J., Michael
JACOBSON, Stephen, C.

(54) Title of the Invention:
Microfluidic Devices for the Controlled Manipulation of Small Volumes

Abstract:

A method for conducting a broad range of biochemical analyses or manipulations on a series of nano- to subnanoliter reaction volumes and an apparatus for carrying out the same are disclosed. The method and apparatus are implemented on a fluidic microchip to provide high serial throughput. The method and device of the invention also lend themselves to multiple parallel analyses and manipulation to provide greater throughput for the generation of biochemical information. In particular, the disclosed device is a microfabricated channel device that can manipulate nanoliter or subnanoliter biochemical reaction volumes in a controlled manner to produce results at rates of 1 to 10 Hz per channel. The individual reaction volumes are manipulated in serial fashion analogous to a digital shift register. The method and apparatus according to this invention have application to such problems as screening molecular or cellular targets using single beads from split-synthesis combinatorial libraries, screening single cells for RNA or protein expression, genetic diagnostic screening at the single cell level, or performing single cell signal transduction studies.

(19) 대한민국특허청 (KR)
(12) 공개특허공보 (A)

(51) 。 Int. Cl. 7
G01N 35/00

(11) 공개번호 특2002 - 0043553
(43) 공개일자 2002년06월10일

(21) 출원번호 10 - 2002 - 7001852
(22) 출원일자 2002년02월09일
번역문 제출일자 2002년02월09일
(86) 국제출원번호 PCT/US2000/40620
(86) 국제출원출원일자 2000년08월10일

(87) 국제공개번호 WO 2001/12327
(87) 국제공개일자 2001년02월22일

(81) 지정국

국내특허 : 아랍에미리트, 안티구아바부다, 알바니아, 아르메니아, 오스트리아, 오스트레일리아, 아제르바이잔, 보스니아 - 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 벨라루스, 벨리즈, 캐나다, 스위스, 중국, 쿠바, 체코, 독일, 덴마크, 코스타리카, 도미니카연방, 알제리, 에스토니아, 스페인, 핀란드, 영국, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 케냐, 키르기즈, 북한, 대한민국, 카자흐스탄, 세인트루시아, 스리랑카, 라이베리아, 레소토, 리투아니아, 룩셈부르크, 라트비아, 몰도바, 마다가스카르, 마케도니아, 몽고, 말라위, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 폴란드, 포르투갈, 루마니아, 러시아, 수단, 스웨덴, 싱가포르, 슬로베니아, 슬로바키아, 타지키스탄, 투르크메니스탄, 우크라이나, 우간다, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 남아프리카, 모잠비크, 탄자니아, 모로코, 그레나다, 가나, 감비아, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 시에라리온, 유고슬라비아, 짐바브웨, 터어키, 트리니다드토바고, AP ARIPO특허: 케냐, 레소토, 말라위, 모잠비크, 수단, 시에라리온, 스와질랜드, 짐바브웨, 우간다, 가나, 감비아, 탄자니아, EA 유라시아특허: 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기즈, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크메니스탄, EP 유럽특허: 오스트리아, 벨기에, 스위스, 사이프러스, 독일, 덴마크, 스페인, 핀란드, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, OA OAPI특허: 부르키나파소, 베냉, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기네, 기네비쏘, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고,

(30) 우선권주장 60/148,502 1999년08월12일 미국 (US)
09/408,060 1999년09월29일 미국 (US)

(71) 출원인

유티 - 배틀레, 엘엘씨
조지 엘. 크레이그
미국 테네시주 37831 - 6498 오크 리지 엠에스 6498 피.오.박스 2008 오크 리지 내셔널
래보라토리

(72) 발명자

램시제이.마이클
미국테네시주37922녹스빌햄프턴로드드라이브733
제이콥슨스티븐씨.
미국테네시주37919녹스빌#다 - 1텔리루너드라이브3639

(74) 대리인

구기완
이광현

심사청구 : 있음

(54) 소량 용적의 제어 조작용 마이크로 유체공학 장치

요약

일련의 나노리터 내지 나노리터 이하의 반응 용적에 대한 광범위한 생화학 분석 또는 조작을 수행하기 위한 방법 및 그러한 수행을 위한 장치를 공개한다. 상기 방법 및 장치는 유체공학적 마이크로칩 상에서 수행되어 일련의 고 처리량을 제공한다. 또한, 본 발명의 방법 및 장치는 생화학적 정보의 생성을 위한 더 많은 처리량을 제공할 수 있는 다중 평행 분석 및 조작을 가능하게 한다. 특히, 상기 공개되는 장치는 제어된 방법으로 나노리터 또는 나노리터 이하의 생화학 반응 용적을 조작함으로써, 채널 당 1 내지 10Hz의 속도로 결과를 제공할 수 있는 마이크로 조작 채널 장치이다. 디지털 스위프트 레지스터와 유사한 일련의 방식으로 각각의 반응 용적을 조작한다. 분리-합성 조합 라이브러리에서 유래한 단일 비드를 사용하여 분자 또는 세포 표적을 스크리닝하거나, RNA 또는 단백질 발현에 대하여 단일 세포를 스크리닝하거나, 단일 세포 수준으로 유전학적 진단 스크리닝을 하거나, 단일 세포 신호 전달 연구를 수행하는 것과 같은 문제에, 본 발명에 따른 방법 및 장치를 적용할 수 있다.

대표도

도 1a

명세서

기술분야

본 발명은 마이크로 조작 유체공학 장치(microfabricated fluidic device), 구체적으로 물질의 일련의 극소량 용적 분할물의 형성 및 수송, 그리고 그의 저장, 회수(retrieval) 및 분석을 위한 장치, 및 그러한 일련의 극소량 용적 분할물을 형성, 수송, 저장 및 회수하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

다수의 기본적인 마이크로 조작 유체공학 장치는 과거 수년에 걸쳐서 연구되어 왔다. 이들 다수의 유체공학 장치는 아주 단순함에도 불구하고, 그들은 다수의 실제적 적용에 있어서 매우 효과적인 것으로 증명되었으며, 생화학적 분리가 수행되는 방법에 일대 변혁을 일으킬 수 있다. 대다수의 연구는 마이크로 조작 플랫폼 상에서 수행하는 전기영동 또는 액체 크로마토그래피 등의 공지된 이동 화학물질 측정 기술과 관련이 있다. 그러한 연구들은, 마이크로 조작 분리 장치들이 그러한 실험에서 정보를 수집하는 것과 관련된 시간과 비용을 개선시키는데 상당히 유용할 것이라는 점을 암시한다. 그러나, 상기 공지된 장치들은 그러한 마이크로 조작 장치들의 잠재력을 발휘할 수 있도록 하는 새로운 실험적 접근법을 개발하지 못하였다. 본 발명자들은 마이크로 유체공학적 제어에 있어서의 개선을 통하여 새롭고 더욱 강력한 생화학적 실험의 패러다임을 구축할 수 있을 것이라고 생각한다.

가장 주목받고 있는 마이크로 조작 유체공학 영역은 동전기적으로 구동되는 공정이다. 동전기적 유체 조작은 시약의 혼합 및 반응, 샘플의 주입 또는 분배, 및 화학적 분리를 위하여 연구되어 왔다. 수많은 연구 그룹들은 전기적으로 구동되는 분리 기술, 예를 들어, 모세관 전기영동(CE), 오픈 채널 일렉트로크로마토그래피(open channel electrochromatography: OCEC) 및 마이셀 동전기적 모세관 크로마토그래피(MEKC) 등을 연구하여 왔다. dsDNA 단편 및 시퀀싱 생성물은 모두 형광 검출을 유도하는 레이저와 연결된 마이크로칩 모세관 겔 전기영동을 이용하여, 그 크기가 분별되어

왔다. 덜 통상적인 전기영동 분리법은 DC 및 펄스 전기장을 이용한 후 어레이(post array)에서 연구되어 왔다. 또한, 형광계 경쟁적 면역분석법은 경계지어지고 표지된 유리 항원의 마이크로칩 전기영동 분리를 이용하여 연구되어 왔다. 이들 소형 장치들은 연구된 모든 경우에 있어서 종래의 실험실 장치에 비하여 동등하거나 우수한 성능을 나타내었으며, 동시에 "더욱 우수 - 신속 - 저렴(better - faster - cheaper)" 한 진귀한 조합을 제공하는 것으로 보인다. 마이크로칩 분리 장치는, 종래의 접근법과 비교할 때, 속도면에서 상당한 이점을 나타낸다. 확산 제한 조건하에서 전기영동 분리의 효율은 샘플에 의한 전압 강하에 비례한다. 이러한 확산 제한 조건은 생성되는 주입 플러그의 좁은 축 범위에 기인하여 마이크로칩 상의 단거리 분리를 위하여 성취될 수 있다. 분석 시간은 적용된 일정 전위에서의 분리 거리에 따라 2차적으로 감소하여, 마이크로칩계 전기영동 분리법에 대한 기초적인 이점을 제공한다.

마이크로칩계 화학물질 분리법의 다른 중대한 이점으로는 적은 용적도 분석할 수 있다는 점, 단일체 집적 샘플을 처리하고 분석할 수 있다는 점, 및 복제의 저비용으로 인하여 고 병행 분석이 가능하다는 점이 있다. 이러한 모든 인자는 고 처리량 분석 및 생화학 정보를 얻는데 드는 시간과 비용의 절감과 부합하는 것이다. 샘플 처리의 집적을 설명하는 초기의 연구로는 전기영동 분리와 함께 이루어지는 아미노산의 후 - 분리 및 예비 - 분리 유도가 있다. 칩에서의 DNA 제한 소화 및 PCR 증폭은 집적된 단일체 마이크로칩 상에서 크기에 따라 분별된 전기영동 단편을 이용하여 이루어졌다. 세포 용균, 다중 PCR 및 CE 분석은 단일 장치내에서 플라스미드 - 함유 E. coli 세포에서 수행하였다. 다중 반응 웰을 포함하는 칩 중의 다중 샘플의 병행 PCR/CE 분석이 또한 연구되었다. 또한, 경쟁적 면역분석법 실험은 샘플과 시약의 혼합, 항온처리 및 전기영동 분리를 위한 유체공학적 부재를 포함하는 마이크로칩 장치에서 수행되어 왔다. 전기적 구동 분리 방법과 함께 이용되어 온 기타 마이크로 조작 유체공학적 요소로는 질량 분광분석법에 의한 분석용 전기분무 이온화, 및 다공성 멤브레인 부재를 사용하는 샘플 농축 및 고상 추출이 있다. 또한, 단지 화학적 반응 및 생화학적 반응을 수행하기 위한 동전기적인 수송을 이용하는 장치들이 연구되어 왔다. 예를 들어, 효소 반응 역학 장치, 효소 분석 장치, 유기 합성 장치 및 세포 조작 장치 등이 있다. 이러한 4가지 적용 모두는 궁극적으로 실험적 생물학에 매우 중요한 것이나, 아직까지 충분하게 개발되어 있지 않다.

다수의 마이크로 조작 유체공학적 장치는 또한 유체 수송을 위하여 수력을 이용하는 것이 연구되어 왔다. 이러한 수력의 이용은 동전기적 수단보다 광범위한 유체공학적 물질에 적용할 수 있지만, 그것은 일반적으로 불편한 수단이다. 수력 구동 유동용 마이크로칩에 대한 외부 연결은 전위를 이용하는 것보다 더욱 귀찮은 일이다. 더욱이, 동전기적 구동력은 전류의 흐름을 따르고, 그래서, 마이크로채널 매니폴드(microchannel manifold)의 말단에 압력 또는 진공을 적용하는데 대하여 그러한 마이크로채널 매니폴드 내의 수송을 더욱 잘 제어할 수 있다. 또한, 동전기력은 수력으로 실행하는 것보다 훨씬 더 큰 유효 압력을 생성시킬 수 있다. 수력 구동 장치의 증명된 성능은 동전기력 구동 장치의 그것에 훨씬 못미치는 것으로 보인다. 그럼에도 불구하고, 다수의 중요한 성능이 보고되어 있다.

PCR을 수행하기 위한 마이크로 유체공학 장치는 상당한 흥미를 불러 일으켰다. 초기의 장치는 단지 샘플 저장기 역할을 하는 실리콘 중에 장착된 챔버만을 포함하였으나, 근래의 장치는 저항열을 위한 실리콘 구조를 이용하거나, 백혈구의 분리를 위한 집적 필터를 사용하였다. 최근에는 연속 흐름 PCR을 위한 흥미로운 장치가 보고되었다. 이 장치는 열 순환을 수반하는 온도 구역을 통하여 진행되는 단일 마이크로채널을 이용하는 것이다. 세포 물질을 처리하는 필터는 실리콘 기판 내로 마이크로 기계화되었다. 유동 세포계측법(flow cytometry) 장치는 또한 실리콘 및 유리 기판 내로 마이크로 기계화되었고, 수력으로 구동되었다.

"칩 위에서(on - chip)" 시약 및 반응 생성물을 조작하는 능력은 마이크로 조작 장치 상에서 사실상 임의 유형의 "습식 - 화학약품(wet - chemical)" 작업 공정을 수행하는 궁극적 능력을 암시한다. 실험실에서 마이크로칩을 이용하도록 하는 패러다임 전환을 통하여, 시약 용적의 감축, 자동화 또는 움직이는 부분이 없는 재료 조작, 비용 절감, 더욱 우수한 병행 처리 및 높은 처리 속도 등의 이점을 얻을 수 있다. 전술한 마이크로 유체공학 구조들 중에서 조작되거나 분배된 유체의 용적은 실험실 규모에서 마이크로리터 규모보다 더 적은 나노리터 이하의 규모로서, 이는 3배 이상의 규모 감소에 상응하는 것이다. 연구되어 온 상기 장치에서의 흐름 속도는 약 1ml/yr의 연속 조작이다. 단일 장치 중에서 다중 공

정을 실행함(수직 집적)에 의해서, 이들 소량의 유체는 컴퓨터의 자동 제어하에서 단계별로 효율적이고 자동적으로 조작될 수 있다. 조작자는 분석을 위하여 단지 샘플을 적하하기만 하면 된다. 명백하게, 이러한 일련의 집적된 다중 분석 단계는, 동일한 장치 상에서 병행 분리 채널과 같은 마이크로 조작 구조를 복제함으로써 처리 능력을 병행적으로 향상시키는 것과 조합될 수 있다.

소위 "칩 위의 실험실(Lab-on-a-Chip)"이라는 것이 많은 장래성을 갖는 것으로 보이나, 많은 부분에 있어서의 성취가 필요할 것이며, 또한 마이크로 전자 공학 분야에서 실현되는 소형화 제작 규모와 병행할 수 있는 수준을 달성하는데 필요한 추가의 발전이 필요할 것이라고 생각된다. 다음 10년에 걸친 공정 파워 또는 정교화와 근접한 수준을 제공하는 "칩 위의 실험실" 장치를 개발하는데 강조되어야만 하는 적어도 4개의 중요한 이슈가 있다. 이들 이슈는 다음과 같다: 진보된 마이크로 유체공학적 제어, "월드-투-칩(world-to-chip)" 인터페이스, 검출 및 존립 가능한 제조 전략. 현재, 마이크로채널 구조에 있어서 유체의 동전기적 조작은 고도의 정밀성을 가지고 처리하는 제어된 소량 용적에서의 예술적 경지(state-of-the-art)라고 표현된다. 이러한 전략에 있어서는 바람직한 경로를 따라 물질을 이동시키기 위하여 각각의 채널 말단에서 시간-의존적 전위 조절을 수행하여 왔다. 이러한 전략은 단순한 설계에 있어서의 흐름 조절 및 혼합에는 매우 유용한 것이었으나, 보다 복잡한 설계에 있어서의 성능 내지 그와 같은 적용에는 한계가 있다. 본 발명자들은 더욱 복잡한 구조를 위하여 마이크로 채널 설계시 다중 지점에서 전위를 조절할 수 있는 새로운 전략이 필요할 것이라고 생각한다. 또한, 동전기적 수송은 조작할 수 있는 물질 및 용액의 유형에 대한 제한이 있다.

월드-투-칩 인터페이스로부터, 다중 샘플 또는 시약을 마이크로칩 상에 송달함으로써 고 처리량 분석을 달성하는 문제가 본 발명자에게 할당되었다. 주어진 샘플을 밀리초 정도로 짧은 시간 안에 분석할 수 있더라도, 현재 그러한 속도로 다중 샘플을 마이크로칩에 제공할 수는 없다. 이러한 문제에 관해서는 별로 많은 연구가 진행되어 오지 않았으나, 이는 최고의 처리량을 얻을 수 있는 실험을 달성하기 위한 중요한 장애물로 표현되고 있다.

발명의 상세한 설명

발명의 요약

본 발명의 제1 실시 양태에 따르면, 유체공학적 마이크로칩 상에서 물질의 일련의 극소량 용적 분할물(segment)(나노리터 또는 나노리터 이하)을 형성 및 수송하는 방법이 제공된다. 이 때, 각각의 용적 분할물은 물질을 분할(segmenting)함으로써 분리된다. 이러한 방법은 수송 유체 원에 연결된 유입구 말단 및 유체 저장기에 연결된 유출구 말단을 구비한 제1 채널을 제공하는 단계 및 분할 유체 원에 연결된 유입구 말단 및 상기 제1 채널과 연통하는 유출구 말단을 구비한 제2 채널을 제공하는 단계를 포함한다. 분할 유체의 극소량 용적을 제1 채널내로 취해서, 제1 채널에서 유체 저장기로 수송한다. 제1 채널로 분할 유체의 극소량 용적을 취하고 수송하는 단계를 반복하여 분할 유체 용적들 사이에 일련의 수송 유체 용적 및/또는 분석 용적을 형성시킨다. 시약, 세포 또는 반응 비드를 수송 유체 용적내로 주입 또는 삽입함으로써 일련의 분석물 또는 분석 용적을 제공할 수 있다. 마이크로칩 상에서의 후속 분석 또는 기타 조작을 위한 저장 및 회수를 위하여 일련의 기록을 제공하도록 하는 일련의 방식으로 분석물 또는 분석 용적을 수송한다.

본 발명의 다른 실시 양태에 따르면, 물질의 일련의 극소량 용적의 재료 분할물을 형성 및 수송하는 장치가 제공된다. 이 장치는 기관 상에 형성된 제1 및 제2 마이크로채널을 구비한 유체공학적 마이크로칩이다. 제1 마이크로채널은 수송 유체 원에 연결된 유입구 말단 및 유체 저장기에 연결된 유출구 말단을 구비하고 있다. 제2 마이크로채널은 분할 유체 원에 연결된 유입구 말단 및 상기 제1 마이크로채널과 연통하는 유출구 말단을 구비하고 있다. 제2 마이크로채널 및 제1 마이크로채널의 유출구 말단들 사이의 제1 마이크로채널에 복수의 전극을 배치한다. 제2 마이크로채널 및 제1 마이크로채널의 유입구 말단 사이의 제1 마이크로채널에 제2 복수의 전극을 배치한다. 상기 장치는 추가로 (i) 제2 마이크로채널로부터 제1 마이크로채널로 분할 유체의 용적을 삽입함으로써 제1 마이크로채널 내에 함유된 수송 유체를 배치하고, (ii) 제1 마이크로채널 내의 분할 유체 용적의 수송을 중단한 후, (iii) 제1 마이크로채널 내에 삽입된 수송 및 분

할 용적을 유체 저장기 쪽으로 수송하기 위한 수단을 포함한다.

본 발명에 따른 장치의 또 다른 실시 양태는, 분할 유체 용적의 연속 쌍에 의하여 형성되는 수송 용적내로 그러한 물질들을 삽입하기 위하여, 추가의 채널, 시약 워, 시약 회석제, 세포 및/또는 반응 입자를 포함한다. 상기 시약, 세포 및/또는 반응 비드를 수송하는 수단도 그러한 실시 양태에 포함된다. 바람직한 배열에 있어서, 제1 마이크로채널은 1 이상의 루프를 포함하여 후속 회수 및 분석 또는 조작을 위한 일련의 반응 용적 저장을 제공한다.

도면의 간단한 설명

전술한 발명의 요약 및 후술하는 발명의 상세한 설명은 첨부 도면을 참조할 때 더욱 명확하게 이해될 것이다. 첨부 도면에 있어서,

도 1a, 1b 및 1c는, 본 발명의 한 실시 양태에 따라, 수송 유체를 함유하는 마이크로채널에 분할 유체 용적을 삽입하는 단계의 순서를 나타내는 마이크로칩의 부분 개략도이고;

도 2는, 본 발명의 다른 실시 양태에 따라, 마이크로채널 내 분할 유체 용적의 교대 쌍 사이의 수송 용적 내로 시약을 적하하는 것을 나타내는 마이크로칩의 부분 개략도이며;

도 3은, 본 발명의 또 다른 실시 양태에 따라, 마이크로채널 내 분할 유체 용적의 교대 쌍 사이에 입자를 적하하는 것을 나타내는 마이크로칩의 부분 개략도이고;

도 4는, 본 발명의 또 다른 실시 양태에 따라, 일련의 방식으로 분할 유체, 효소 및 기질을 마이크로채널 내로 순차적으로 삽입하는 것을 나타내는 마이크로칩의 부분 개략도이며;

도 5는, 본 발명의 또 다른 실시 양태에 따라, 일련의 방식으로 분할 유체, 반응 입자 및 시약 유체를 마이크로채널 내로 순차적으로 삽입하는 것을 나타내는 마이크로칩의 부분 개략도이고;

도 6은, 일련의 효소-비드 분석을 제공하기 위한 배열을 나타내는 마이크로칩의 부분 개략도이며;

도 7은, 일련의 세포, 반응 비드 또는 시약 용적을 저장하고 회수하기 위한 배열을 나타내는 마이크로칩의 개략도이고;

도 8은, 도 7에 도시한 바와 같은 마이크로칩을 포함하는 신규 약물 연구 및 동정용 시스템의 개략도이다.

실시에

발명의 상세한 설명

이하에서는 첨부 도면을 참고하여 본원 발명을 설명한다. 첨부 도면(특히, 도 1a, 1b 및 1c)에서는 동일하거나 유사한 성분 또는 특징을 언급하기 위하여 유사한 참조 번호를 사용하였다. 도면에는 주 마이크로채널(10)이 도시되어 있다. 주 마이크로채널(10)은 거의 직선형이며, 수송 유체 워(도시하지 않음)에 연결된 유입구(12)와 폐기물 저장기(도시하지 않음)에 연결된 유출구(14)를 구비하고 있다. 분지 채널(16)은 주 마이크로채널(10) 내로 분할 또는 분리 유체(2)를 인도하기 위하여 주 마이크로채널(10)과 교차하게 배치된 유입구(18)와 유출구(20)를 구비하고 있다. 유출구(20)와 유출구(14) 사이에, 주 마이크로채널(10)을 따라 전극(e1), (e2), (e3) 및 (e4)를 이격시켜 배치한다. 유출구(20)와 유입구(12) 사이에, 주 마이크로채널의 측부를 따라 전극(e5), (e6) 및 (e7)을 이격시켜 배치한다. 모든 전극은 상기 마이크로채널 내에 함유되는 유체와 접촉 상태로 배치시킨다. 수송 유체, 분할 유체 또는 이들 양자 모두는 축의 전기장에 노출되었을 때 마이크로채널을 통하여 수송될 수 있다. 이러한 작용은 동전기적 흐름으로 언급할 수 있을 것이며, 이는 전기영동, 전기침투 및 전기 유체역학적 수송과 같은 현상을 포함한다.

도 1a, 1b 및 1c에 도시된 배열에 있어서, 분할 유체(22)는 일련의 분리된 극소량 용적으로서 주 마이크로채널(10) 내로 삽입될 수 있다. 분할 유체(22)의 극소량 용적의 삽입을 수행하기 위한 단계는 본질적으로 다음과 같다. 수송 유체로 주 마이크로채널(10)을 채운다. 전위 원(24a)을 전극(e1) 및 (e2) 사이에 적용하고, 제2 전위 원(24b)을 전극(e5) 및 (e6) 사이에 적용한다. 도 1a의 주 마이크로채널(10) 내에서 화살표로 나타낸 방향으로 수송 유체의 동전기적 흐름이 유도될 수 있도록 전위의 크기 및 극성을 선택한다. 그러한 수송 유체의 흐름은, 도 1b에 도시한 바와 같이, 분할 유체(22)가 주 마이크로채널(10) 내로 흐르게 한다. 분할 유체는 수송 유체보다 전도성이 낮아, 분할 유체(22)가 분지 멤브레인(e5)과 접촉해 들어오는 경우에, 전극(e5) 및 (e6) 사이에서 전류 강하가 일어나서, 그 방향으로의 유체 흐름이 중단될 것으로 추정할 수 있다. 그러나, 전극(e1) 및 (e2)를 가로지르는 전위의 힘으로 분할 유체(22)는 배출구(14) 쪽으로 계속 흘러간다. 주 마이크로채널(10) 내로 분할 유체의 소정 용적을 도입한 경우에, 전극(e6) 및 (e7) 사이에 전위 원(24c)을 인가함으로써 그 분할 유체 용적이 주 마이크로 채널(10) 내로 분배된다. 도 1c의 주 마이크로 채널(10) 내에서 화살표로 나타낸 방향으로 수송 유체의 전기침투적 흐름이 유도될 수 있도록 전위의 크기 및 극성을 선택한다. 분할 유체의 용적이 브릿지 멤브레인(e1)과 접촉하여 들어오는 경우에, 전극(e1) 및 (e2) 사이에 전류 강하가 일어나서, 그 방향의 유체 흐름이 중단된다. 그 후, 전극(e2) 및 (e3) 사이에 전위를 인가하여 수송 유체 및 분할 유체 용적의 수송을 계속시킨다. 유사하게, 분할 유체 용적이 브릿지 멤브레인(e2)와 접촉하여 들어오는 경우에, 전극(e2) 및 (e3) 사이에 전류 강하가 일어나서, 그 방향의 유체 흐름이 중단된다. 그 후, 전극(e3) 및 (e4) 사이에 전위를 인가하여 주 마이크로채널(10)을 따른 수송 유체 및 분할 유체 용적의 수송을 또한 계속시킨다. 본 명세서에서 그 전체 명세서를 참고 인용하는 본 출원인의 동시 계류 미국 특허 출원 제09/244,914호에는, 본 발명에서 사용된 유형의 직선형 펌핑 배열의 물리적 구조 및 작동 방법이 더욱 상세하게 기술되어 있다.

동전기적 수송 메커니즘에 대한 대안으로서, 수송 유체 이동 및 분할 유체 주입, 및 본 발명에 따른 장치 또는 방법에 이용되는 기타 물질의 이동 및 주입은 적절한 채널 또는 채널들에 압력 또는 진공을 적용함으로써 수행할 수 있다. 또한, 필요에 따라, 본 발명에 따라 주어진 장치 또는 방법을 실행하기 위하여 동전기, 압력 및/또는 진공 수송 메커니즘의 조합을 이용할 수도 있다.

분할 용적이 주 마이크로채널(10)에서 충분한 거리만큼 흐른 후에, 그 과정을 반복하여 다른 분할 용적을 도입한다. 분할 유체를 주 마이크로채널(10)으로 펌핑하는 속도가 충분히 높지 않다면, 그 후 분지 채널(16)에 유사한 전극을 배치할 수 있다.

분할 유체는 수송 유체 및 반응 유체(들) 중에 혼합될 수 없는 액체인 것이 바람직하다. 또한, 분할 유체는 사용되는 생물학적 시약과 생적합성이 있어야만 한다. 분할 유체는 반응/수송 과정의 조작상 제어를 위하여 부전도성인 것이 바람직하다. 예를 들어, 부전도성 유체는 마이크로채널 내에서 수송되는 일련의 극소량 용적 중의 펌핑 용적 및 반응 위치를 추적하는 편리한 방식을 제공한다. 또한, 분할 유체는 사용되는 다양한 시약에 대한 최소의 화학 분배 계수를 가져야 한다. 파라핀 및 광유가 적절하다. 왜냐하면, 이들은 어떠한 악영향도 끼치지 않으면서 세포의 용액의 소량 용적 중에서 세포를 분리하는데 사용되어 왔기 때문이다. 퍼플루오로카본류가 또한 적당할 수 있다. 왜냐하면, 이들은 생적합성이 요구되는 광범위한 용도에서 사용되기 때문이다. 실리콘 오일은 또 다른 적당한 분할 유체용 물질 군이다. 프로판과 같은 기체는 분할 유체와 같은 용도에 적당할 수 있으나, 수송 또는 반응 유체 중에 용해되거나, 기체-투과성 커버 플레이트를 통하여 유출되어 유체 분할물 분리를 위한 효율을 감소시킬 수 있다.

유체공학적 마이크로칩 상에서 일련의 방식으로, 극소량의 물질로 다양한 조작을 수행하기 위한 바람직한 배열을 설명하면 다음과 같다. 다양한 실시 양태와 관련하여 기술하거나 나타내지 않았지만, 다양한 배열은 도 1과 관련하여 기술한 바와 같은 전기적 접촉부의 배열을 포함하여 다양한 마이크로 조작 장치의 채널 내에서 유체공학적 물질의 수송을 달성하는데 필요한 전위를 제공할 수 있다. 대안적으로, 전술한 바와 같이 압력 또는 진공 수단도 사용할 수 있다.

본 발명에 따른 방법의 중요한 특징은 주 마이크로채널 내에서 일련의 극소량 반응 유체 용적을 일련의 극소량 용적 분할물로 삽입할 수 있다는 점이다. 이제, 도 2와 관련하여 설명한다. 도 2에는 주 마이크로채널(10) 내에서 시약을 일련의 반응 용적으로 제어 적하하기 위한 배열이 도시되어 있다. 복수의 분할 유체 용적(26a), (26b), (26d) 및 (26e)를 전술한 바와 같이 이격된 간격으로 주 마이크로채널(10)내로 도입한다. 시약 채널(28)은, 화학 또는 생화학 시약(34)을 주 마이크로채널(10)로 유도하기 위하여, 주 마이크로채널(10)과 교차되어 있는 유입구(30) 및 유출구(32)를 구비한다. 폐기물 채널(38)은 상기 유출구(32)와 거의 대향하는 위치에서 주 마이크로채널(10)과 연통한다. 희석 채널(40)은 희석제가 반응 유체(34) 내로 혼합될 수 있도록 시약 채널(28)과 연통한다. 반응 유체(34)의 극소량 용적의 삽입을 수행하는 단계는 본질적으로 다음과 같다.

주 마이크로채널(10)을 통하여, 수송 유체 및 분할 유체 용적(26a), (26b), (26c), (26d) 및 (26e)를 펌핑한다. 분할 유체 용적(26b) 및 (26c)의 연속쌍이 유출구(32)에 근접할 때, 상기 펌핑이 중단되고, 분할 유체 용적(26b) 및 (26c) 사이의 용적으로 반응 유체(34)가 펌핑된다. 분할 유체 용적(26b) 및 (26c) 사이에 함유된 수송 유체는 폐기물 채널(38)로 유도하는 것이 바람직하다. 대안적으로, 수송 유체를 첨가하거나 치환할 수도 있다. 그 후, 주 마이크로채널(10)을 따라 반응 유체 용적(36a)를 동전기적으로 수송한다. 본 발명의 한 실시 양태에 따라 정전기적 작동 모드를 기술하였지만, 반응 유체를 반응 용적으로 동력학적으로 송달함으로써 고 처리량을 제공할 수도 있다는 것이 인식될 것이다. 그러한 동력학적 조작은 반응 용적이 유출구(32)에 도달함과 동시에 반응 유체가 주입되도록, 반응 유체와 수송 유체의 송달을 조절함으로써 실행될 수 있다.

분할 유체 용적의 교대 연속 쌍들 사이에 반응 유체 용적(36a) 및 (36b)를 함유시키는 것이 바람직하다. 그래서, 도 2에 도시한 바와 같이, 분할 유체 용적(26b) 및 (26c) 사이에 반응 유체 용적(36a)를 함유시킨다. 한편, 분할 유체 용적(26d) 및 (26e) 사이에 반응 유체 용적(36b)를 함유시킨다. 그와 같이 교대로 배열함으로써, 축의 전기장에 반응 유체를 노출시키지 않고 주 마이크로채널을 통하여 반응 유체 용적을 펌핑할 수 있고, 또는 반응 유체가 동전기적 흐름을 지지하지 않는 경우에, 수송이 이루어진다. 환언하면, 수송 유체를 포함하는 분할물에 대해서만 전위를 인가한다. 분할 용적 사이의 용적내로 주입하기 전에, 희석제를 시약에 혼합함으로써 반응 유체의 농도를 조절한다. 이러한 방법에 있어서, 각각 상이한 농도를 갖는 일련의 시약 용적을 생성시킬 수 있다.

본 발명에 따른 방법의 다른 중요한 특징은 비드 또는 세포와 같은 일련의 반응 입자를 주 마이크로채널 내에 일련의 극소량 용적 분할물로 삽입시킬 수 있는 능력이다. 도 3을 참고하여 설명한다. 도 3에는 주 마이크로채널(10) 내에 일련의 반응 용적으로 복수의 반응 입자(44)를 분류(sorting)하여 적하하기 위한 배열이 도시되어 있다. 전술한 바와 같이 이격된 간격으로, 주 마이크로채널(10) 내에 복수의 유체 용적(26a), (26b), (26c), (26d) 및 (26e)를 도입한다. 입자 저장기(42)는 현탁 유체 중의 복수의 반응 입자(44)를 함유한다. 입자 분류 채널(46)은 입자(44) 수용용 저장기(42)의 유출구에 연결된다. 한 쌍의 집속 채널(focusing channel) (48a) 및 (48b)는 입자 분류 채널(44)과 연통한다. 상기 집속 채널(48a) 및 (48b)는 입자(44) 흐름의 폭이 좁아져 단일 - 입자 - 폭 스트림으로 유동하는 집속 유체를 제공한다. 본 명세서에 그 전체 명세서가 참고 인용되는 본 출원인의 미국 특허 제5,858,187호 및 공 - 계류 특허 출원 제 09/098,178호에는 상기 유형의 동전기적 집속이 기술되어 있다.

반응 입자 채널(50)은 집속 채널(48a) 및 (48b)의 하류 위치에서 입자 분류 채널(46)과 교차한다. 반응 입자 채널(50)과 입자 분류 채널(46)의 교차 지점에서, 바람직한 반응 입자(44')는 바람직하지 않은 입자(44'')와 분리된다. 채널(50)의 유입구(50a)에 전위 또는 압력을 적용하여, 입자(44')가 채널(50)을 따라 주 마이크로채널(10)으로 도입되도록 한다. 반응 입자 채널(50)은, 반응 입자를 주 마이크로채널(10)으로 도입시키기 위하여 주 마이크로채널(10)과 연통하는 유출구(56)를 구비한다. 입자 분류 채널(46)으로부터 연장되어 있는 입자 폐기물 채널(52)를 따라 바람직하지 않은 입자(44'')를 폐기시킨다.

반응 입자(44')를 수송 스트림으로 도입시키기 위한 단계는 본질적으로 다음과 같다. 주 마이크로채널(10)을 통하여, 수송 유체 및 분할 유체 용적(26a), (26b), (26c), (26d) 및 (26e)를 동전기적으로 펌핑한다. 분할 유체 용적(26b) 및 (26c)의 연속 쌍이 유출구(56)에 근접하는 경우에, 단일 입자를 갖는 입자 현탁 유체가 분할 유체 용적(26b) 및 (26c) 사이의 용적내로 동전기적으로 펌핑되고, 그 안에 함유된 수송 유체는 폐기물 채널(38)로 유도된다. 이러한 배열에 있어서, 상기 폐기물 채널 교차부 또는 적어도 그 유입구는 크기 분별되어, 그를 통하여 입자가 통과되지 않도록 한다. 그 후, 주 마이크로채널(10)을 따라 검출/분석 채널(39)로 현탁 유체의 반응 입자 및 그 용적을 동전기적으로 수송한다. 분할 유체 용적의 교대 연속 쌍 사이에 반응 입자를 함유시키는 것이 바람직하다. 그래서, 도 3에 나타난 바와 같이, 분할 유체 용적(26b) 및 (26c) 사이에 제1 입자를 함유시킨다. 한편, 분할 유체 용적(26d) 및 (26e) 사이에 제2 입자를 함유시킨다. 순서를 그와 같이 교대로 배치함으로써, 반응 입자를 축의 전기장에 노출시키지 않고 주 마이크로채널을 통하여 반응 유체 용적을 펌핑할 수 있다. 그 끝에 수송 유체를 함유하는 분할물에만 전위를 인가한다.

유체 마이크로칩과 혼합된 시약 및 유체 흐름을 정확하게 조작할 수 있는 능력으로 인하여 그 효소 활성 및 억제 연구가 가능하다. 효소 분석 마이크로칩은 약물 발견 및 의약적 진단에 대하여 중요한 관련이 있다. 도 4를 참고하여 설명한다. 도 4에는 고 처리량의 효소 분석을 가능하게 하는 배열이 도시되어 있다. 본 명세서에서 전술한 바와 같이 이격된 간격으로 복수의 분할 유체 용적(26a), (26b), (26c) 및 (26d)를 주 마이크로채널(10)에 삽입한다. 효소 채널(428)은, 유체 효소 물질(434)를 주 마이크로채널(10)으로 도입하기 위하여 주 마이크로채널(10)과 교차하는 유입구(430) 및 유출구를 구비한다. 폐기물 채널(38)은 효소 채널(428)의 유출구와 거의 대향하는 위치에서 주 마이크로채널(10)과 연통한다. 희석 채널(440)은, 희석제가 효소 물질(434)내로 혼합될 수 있도록 효소 채널(428)과 연통한다. 기질 채널(68)은 유체 기질 물질(70)을 주 마이크로채널(10)으로 도입하기 위하여 효소 채널 유출구 하류의 주 마이크로채널(10)과 교차하는 유입구 및 유출구를 구비한다. 희석 채널(72)은, 희석제가 기질 물질(70)내로 혼합될 수 있도록 기질 채널(68)과 연통한다.

상기 효소 물질(434)의 극소량 용적을 주 마이크로 채널에 삽입시키는 단계는 도 2와 관련하여 시약 유체의 주입에 대하여 기술하였던 바와 본질적으로 동일하다. 주 마이크로채널(10)을 통하여 수송 유체 및 분할 유체 용적(26a), (26b), (26c) 및 (26d)를 펌핑한다. 분할 유체 용적(26b) 및 (26c)의 연속 쌍 사이에 함유된 효소 용적 분할물(434a)가 기질 채널(68)의 유출구에 근접할 때, 상기 펌핑을 중지시키고, 유체 기질 물질(70)을 효소 용적 분할물(434a) 내로 펌핑한다. 효소 물질 및 기질을 반응 용적내에서 혼합한다. 그 후, 주 마이크로채널(10)을 따라서 배합된 유체 용적을 검출/분석 채널(39)로 수송한다. 각각의 것과 혼합되는 희석제의 양을 변화시킴에 의해서 효소 및 기질 물질의 농도를 변화시킬 수 있고, 이에 따라 일련의 방식으로 마이크로채널(10)을 따라 수송될 수 있는 다수의 상이한 효소 분석물을 생성시킬 수 있다.

또한, 반응 용적에 억제제를 첨가하는 수단을 제공할 수 있다. 그러한 방법의 한 실시 양태에 있어서, 상기 억제제 송달을 위하여 비드 쉬프트 레지스터(bead shift register)를 사용할 수 있다. 그러한 배열에 있어서, 효소, 기질 및 억제제가 반응할 것이며, 차후의 분석을 위하여 양성 억제제를 유도하는 비드의 위치를 기록한다. 대안적 배열은 상기 비드가 임의로 분배되는 저장기내로 비드 라이브러리를 모으는 것이다. 화합물이 표적 분석물을 함유하는 반응 용적으로 송달되는 위치에 각각의 비드를 수송한다. 도 4와 관련하여 도시하고 기술한 바와 같이 (단, 분석 결과를 얻기에 충분한 시간 동안만) 쉬프트 레지스터 배열 중에서 상기 비드를 분할 처리(indexing)한다. 결과가 부정적인 경우에는, 상기 비드를 일반적인 저장기로 수송하지만, 억제가 관찰되는 경우에는, 예를 들어 전기분무 질량 분광분석법에 의하여, 즉시 또는 추후에 화합물을 동정하기 위하여 상기 비드를 상기 쉬프트 레지스터 내에 저장한다.

마이크로채널(10)의 하류 적절한 거리에 위치한 분석 채널(39) 중의 적절한 기구를 사용하여 반응 용적의 효소 활성을 분석한다. 상기 실제 거리는 상기 효소, 기질 및 억제제의 요구되는 항온 처리 시간, 및 분석 반응 용적의 평균 선속도에 따라 달라진다.

본 발명의 한 실시 양태에 따라 유체 마이크로칩 상에서의 시약의 동전기적 혼합 및 수송을 이용하는 효소 분석의 제1 실시예에 있어서, 형광 기질(레조루핀- β -갈락토피라노시드)를 효소 β -갈락토시다제와 혼합한다. 가수분해 생성물인 레조루핀의 형광을 모니터하여 반응 역학을 관찰하였다. 억제제가 존재 및 부재하는 경우의 가수분해 반응에 대한 미카엘스-멘텐 상수를 유도한다. 본 발명의 방법에 따라 실행할 수 있는 효소 분석에 대한 제2 실시예는 아세틸콜린에스테라제(AchE) 활성을 측정하는 분석 방법이다. 이는 2단계 분석이며, 이에 따라 AchE는 아세틸티오콜린을 티오콜린으로 가수분해시킨 다음, 쿠마리닐페닐말레이미드(CPM)와 반응시켜 고형광 티오에테르인 CPM-티오콜린을 생성한다. 최종 생성물의 형광을 모니터하여 효소 활성을 측정한다. 억제제가 존재하는 경우 그러한 억제제가 부재하는 경우에 비하여 형광 신호가 감소한다.

도 5를 참고하여 설명한다. 도 5에서는 세포 생육력을 비롯한 세포 분석을 위한 스크리닝에 있어서 고 처리량의 스크리닝을 위한 배열을 도시한다. 전술한 바와 같이 분지 채널(16)로부터 이격된 간격으로 복수의 분할 유체 용적(26a) 내지 (26g)를 주 마이크로채널(10) 내에 삽입한다. 세포 채널(50)은, 분지 채널(16)의 하류 위치에서 세포(44')를 주 마이크로채널(10)으로 도입하기 위하여 주 마이크로채널(10)과 교차한다. 생적합성 완충액 중에 세포들을 현탁시킨다. 폐기물 채널(38)은 세포 채널(50)의 유출구와 거의 대향하는 위치에서 주 마이크로채널(10)과 연통한다. 폐기물 채널(38)의 횡단면의 치수는 세포(44')의 최소 주 횡단면 치수보다 작게 되도록 한다. 시약 채널(28)은 세포 채널(50)의 하류 위치에서 주 마이크로채널(10)과 교차한다. 제2 폐기물 채널(38')은 시약 채널(28)의 유출구와 거의 대향하는 위치에서 주 마이크로채널(10)과 연통한다.

주 마이크로채널(10)을 통하여 수송 유체 및 분할 유체 용적(26a) 내지 (26g)를 펌핑한다. 분할 유체 용적(26b) 및 (26c)의 연속 쌍이 세포 채널(50)의 유출구에 근접하는 경우에, 상기 세포 현탁 유체를 펌핑하여 분할 유체 용적(26b) 및 (26c) 사이의 반응 용적으로 도입함으로써 단일 세포를 상기 반응 용적에 삽입한다. 대안적으로, 전체 세포를 반응 용적에 적하할 수도 있다. 동시에, 거기에 함유된 수송 유체를 폐기물 채널(38)로 유도한다. 그 후, 상기 반응 용적 내의 현탁 유체 중의 세포 및 그 용적을 주 마이크로채널(10)을 따라 시약 채널(28)의 유출구로 수송한다. 세포를 함유하는 반응 용적으로 시약(34)를 펌핑하여 세포 현탁 유체를 치환시킨다. 폐기물 채널(38')을 통하여 세포 현탁 유체를 배출시킨다. 그 후, 반응 용적 중의 세포 및 시약을 검출/분석 채널(39)로 수송한다. 각 세포에 대하여 이러한 과정을 반복한다. 본 명세서에서 전술한 바와 같이 분할 유체 용적의 교대 연속 쌍 사이의 반응 용적에 상기 세포(44')를 함유시키는 것이 바람직하다. 시간, 펌핑 조건 및 매질 조성의 함수로 세포 분석을 실시한다.

마이크로 유체공학적 칩내 시약의 매우 적은 소모량은 값비싼 시약 및 억제제 물질 및 그 기질 물질을 스크리닝하는데 상당한 이점을 제공한다. 10 내지 100 마이크로미터 직경 이상의 비드 상에서 각각의 방출가능 링커로 그러한 실험을 위한 펩티드 라이브러리를 합성할 수 있다. 도 6을 참고하여 설명한다. 도 6에서는 본 발명에 따라 유체공학적 마이크로칩 상에서 비드 스크리닝 과정을 수행하기 위한 기초적 배열을 도시한다. 마이크로채널(10) 및 (610)의 쌍을 평행 관계로 이격시켜 배치한다. 완충 채널(82)를 통하여 완충액 저장기(80)를 마이크로채널(610)에 연결시킨다. 폐기물 채널(86)을 통하여 폐기물 저장기(84)를 마이크로채널(10)에 연결시킨다. 수송 채널(88)은 완충 채널(82)와 폐기물 채널(86)이 거의 일직선을 이룬 위치에서 마이크로채널(610)과 마이크로채널(10)을 연통시킨다.

마이크로채널(10) 내의 분할 유체 용적(26a) 내지 (26d) 사이에 일련의 반응 용적을 형성시키고, 마이크로채널(610) 내의 분할 유체 용적(626a) 내지 (626d) 사이에 상응하는 일련의 반응 용적을 형성시킨다. 마이크로채널(610) 내의 반응 용적(b_{j-1}), (b_j) 및 (b_{j+1})이 마이크로채널(10) 내의 반응 용적(C_{j-1}), (C_j) 및 (C_{j+1})과 동기(synchronism)적으로 유지되도록, 각각의 마이크로채널을 따라 각 마이크로채널 내의 반응 용적을 수송한다. 도 3과 관련하여 전술한 방법과 유사한 방법으로 비드(44a), (44b) 및 (44c)를 반응 용적(b_{j-1}), (b_j) 및 (b_{j+1})에 각각 삽입한다. 도 2와 관련하여 전술한 방법과 유사한 방법으로 효소 용적(36a), (36b) 및 (36c)를 반응 용적(C_{j-1}), (C_j) 및 (C_{j+1})에 각각 삽입한다.

각각의 비드가 수송 채널(88)에 도달할 때, 그 화합물은 그 비드로부터 방출되어 상응하는 반응 용적으로 수송된다. 그 후, 상기 비드 및 그 관련 반응 용적은 기록하여 하류 스테이션으로 이동시키는데, 여기에서, 형광 분석을 위하여 형광 기질을 반응 용적(C_{j-1}), (C_j) 및 (C_{j+1})에 첨가하게 된다. 역제를 나타내는 반응 용적에 상응하는 비드를 분류해서, 직각 분리 방법으로 제2차 화합물 방출을 실시하는 스테이션으로 이동시킬 수 있다. 전기분무 이온화 질량 분광 분석법에 의하여 그러한 화합물을 분석하여 그 화학 구조를 측정할 수 있다.

전술한 바와 같은 임의의 유체공학적인 마이크로칩 - 실험 과정을 이용하여 일련의 연장된 분할 분석물, 세포, 비드 등을 마이크로채널 내에서 수송할 수 있다. 포함된 반응 용적은 나노리터 또는 나노리터 이하의 용적이고, 그래서 수많은 상이한 화합물, 분석물, 세포, 비드 등을 제공하는 것이 바람직하다. 또한, 대용량 용적을 사용할 수 있다는 점도 고려된다. 각 반응 용적을 분리하기 때문에, 디지털 스위프트 레지스터를 통해 이동하는 일련의 전자 비트와 유사하게, 마이크로채널을 통하여 그 반응 용적이 이동함에 따라 그 위치를 확인하고 추적할 수 있다. 도 7을 참고하여 설명한다. 도 7에서는 시약, 세포, 조합된 라이브러리 비드 등을 함유하는 많은 반응 용적을 보관하고 회수하기 위한 배열을 도시한다. 수송 유체 채널(60)을 통하여 마이크로채널(10)을 수송 유체 원에 연결시킨다. 전술한 바와 같이, 분지 채널(16)을 통하여 분할 유체를 마이크로채널(10)에 제공한다. 시약 채널(28)을 통하여 시약, 세포 또는 비드를 마이크로채널(10) 내의 반응 용적 내에 삽입한다. 반응 용적으로부터 수송 유체를 유출시키기 위하여 폐기물 채널(38)을 마이크로채널(10)과 연통시킨다.

마이크로채널(10)을 한 방향으로 연장시켜 복수의 루프(64a), (64b) 및 (64c)를 형성시키고, 저장기(62a) 내에서 종결시킨다. 마이크로채널(10)을 반대 방향으로 연장시켜 두 번째 복수의 루프(66a), (66b) 및 (66c)를 형성시키고, 저장기(62b) 내에서 종결시킨다. 제1 조작 모드에 있어서, 보관용 루프(64a), (64b) 및 (64c)를 통하여, 상기 분할 유체 용적 사이에 형성된 반응 용적을 제7도에서 진한 화살표로 나타낸 방향으로 단계적으로 수송함으로써 이들을 진행시킨다. 제2 조작 모드에서, 상기 반응 용적을 점선 화살표로 나타낸 방향으로 단계적으로 수송함으로써 그 반응 용적을 회수한다. 루프(66a), (66b) 및 (66c)의 조합 길이는 루프(64a), (64b) 및 (64c)의 조합 길이와 유사한 길이이고, 그래서 루프(64a), (64b) 및 (64c)에 보관되는 전체 반응 용적은 추후 분석을 위하여 회수될 수 있다.

도 7에 도시하지는 않았지만, 방법 1을 위한 보관/회수 장치를 실행하기 위하여 필요한 전극 레이아웃은 두 방향으로 반응 용적을 수송할 수 있는 것과 같은 것일 것이다. 상기 루프들의 4개의 측면 각각에서 상기 전극 또는 접촉부가 들어갈 것이다. 적당한 공간 주기로 마이크로채널 루프들과 적당하게 접촉하도록 전극 형태를 선택한다. 즉시 또는 추후 분석을 위하여 레지스터내로 그러한 레이아웃을 갖는 물질들을 연속적으로 적하할 수 있다. 반응 용적을 마이크로채널 루프들 사이의 뒤 및 앞으로 이동시킴에 따라, 상기 물질들을 시약 또는 분석 스테이션으로 송달할 수 있다.

루프(64a), (64b) 및 (64c)에 의해 형성된 저장 बैं크 내에 유지될 수 있는 반응 용적의 갯수는 하기 방정식(1)을 이용하여 계산할 수 있다:

[방정식 1]

$$N = \frac{4L_s}{(L_R + L_I)} \left(n - \frac{n(2n-1)}{2} \frac{L_I}{L_s} \right)$$

상기 방정식에서, L_S 는 가장 바깥 쪽 루프의 한 측면 길이이고, L_R 은 반응 용적의 길이이며, L_I 는 분리 분할물의 길이이고, L_C 는 상기 루프들내의 근접한 채널들 사이 중앙-대-중앙의 공간이며, n 은 루프들의 갯수이다. 예를 들어, L_S 가 100mm이면 $L_R + L_I = 1mm$ 이고, L_C 가 0.1mm이면 $n=100$ 이며, 그래서 쉬프트 레지스터 저장 루프에 약 19010 반응 용적(N)을 저장할 수 있다. 그러한 장치는 100mm x 100mm 마이크로칩 기판의 약 10% 면적만을 사용할 것이다. 본 명세서에 기술된 바람직한 배열은 하나 이상의 루프를 포함하여 저장 채널을 형성하지만, 당업자들은 다른 배열을 사용할 수 있다는 것을 용이하게 이해할 것이다. 예를 들어, 곡선형 배열도 똑같이 효과적일 것이다.

도 5 및 도 6과 관련하여 기술한 바와 같은 조합된 비드 라이브러리를 처리하기 위하여, 그러한 쉬프트 레지스터 저장/회수 장치는 매우 유익하다. 분리-합성(split-synthesis)에서 유래한 비드를 저장기에 집합적으로 적하하고, 칩 위에서 비드 분류능을 이용하여 저장 레지스터 내로 분배한다. 반응 용적 내용물내로의 사전 방출 또는 필요한 경우, 광 세포 용균에 의하여 그러한 비드로부터 화합물을 부분적으로 방출시킬 수 있다. 반응 화합물의 질량 분광분석 동정을 위하여 마이크로칩 상의 전자분무 이온화 스테이션에 혼입함으로써 상기 비드 라이브러리를 검정(certifying)할 수 있다. 또한, 도 6과 관련하여 기술한 바와 같은 생물학적 분석을 수행하기 위하여 상기 화합물을 분리 반응 용적으로 송달하는 위치에, 비드들을 위치시킬 수 있다.

도 8을 참고하여 설명한다. 도 8에서는 신규 약물을 동정하기 위한 시스템 (800)을 도시한다. 복수의 삽입 채널을 통하여, 잠재적으로 유용한 일련의 약물 화합물을 합성하기 위한 합성 모듈(810)을 주 마이크로채널(812)에 연결시킨다. 합성된 화합물 각각을 수송 용적 내로 삽입하고, 본 명세서에서 전술한 바와 같은 방법으로 마이크로채널(812)를 따라 수송한다. 검정 모듈(814)는 합성된 화합물의 분자 구조를 분석하고 확인하기 위하여 제공된다. 합성된 화합물의 샘플을 얻기 위한 복수의 제2 채널을 통하여 상기 검정 모듈을 마이크로채널(812)에 연결시킨다. 분자 또는 세포 표적에 대하여 일련의 합성된 화합물의 스크리닝을 수행하기 위하여 분석 모듈(818)이 또한 제공된다. 합성된 약물 화합물의 샘플을 얻기 위한 복수의 제3 채널로 스크리닝 모듈(818)을 마이크로채널(812)에 연결시킨다. 일련의 방식으로, 표적 저장 모듈(820) 및 (821)에 표적 분자 또는 세포를 저장한다. 표적물을 스크리닝 모듈(818)로 수송하기 위하여 표적 저장 모듈들 사이에 제2 마이크로채널(822)를 배치한다.

추후 회수를 위하여, 마이크로채널(812)를 따라 일련의 약물 화합물을 저장 모듈(816) 및 (817)로 수송한다. 이러한 특징으로 인하여 합성시보다 실질적으로 후의 시간에 상기 약물 화합물을 분석 및/또는 스크리닝할 수 있다. 상기 스크리닝 모듈(818)에 의하여 수행되는 스크리닝의 결과는 결정 모듈(824)로 제공되고, 이 결정 모듈(824)에서는 상기 초기 결과에 기초하여 합성된 화합물의 효율을 평가하며, 신규하고 상이한 화합물을 합성하기 위한 합성 모듈(810)으로 피이드백을 제공할 수 있다. 이러한 방식으로, 단일 마이크로칩 상에서 다수의 신규 약물 화합물을 신속하고 자동적으로 합성하고, 검정하며, 스크리닝할 수 있다.

전술한 발명의 상세한 설명 및 첨부 도면의 관점에서, 당업자들은 본 발명에 따른 방법 및 장치가 일련의 고 처리능과 함께 나노리터 또는 나노리터 이하 규모에 있어서 정확하고 자동적인 조작상의 이점을 나타내는 광범위한 생화학 분석 문제를 제기할 수 있음을 이해할 것이다. 또한, 본 명세서에 기술되어 있는 장치 및 방법은 화학 및 생화학적 정보의 생성을 위한 더 많은 처리량을 제공할 수 있는 다중 평행 확대를 제공한다. 상기 기술된 마이크로채널 장치는 제어된 방법으로 생화학적 반응 용적을 조작함으로써, 신속한 결과, 예를 들어, 채널 당 약 1 내지 10 Hz의 속도를 제공할 수 있으며, 100 Hz 또는 1000 Hz까지의 속도가 달성가능한 것으로 예측된다. 사용되는 반응 용적은 확산성 손실 없이 분자

또는 미립자 종을 함유할 수 있다.

디지털 스위프트 레지스터와 유사한 일련의 방식으로 상기 개개의 반응 용적을 조작한다. 상기 장치는 루프 마이크로채널을 포함하여 추후 회수를 위한 반응 용적의 일련의 저장물을 제공한다. 분리-합성 조합 라이브러리에서 유래한 단일 비드를 사용하여 분자 또는 세포 표적을 스크리닝하거나, RNA 또는 단백질 발현에 대하여 단일 세포를 스크리닝하거나, 단일 세포 수준으로 유전학적 진단 스크리닝을 하거나, 단일 세포 신호 전달 연구를 수행하는 것과 같은 문제에, 본 발명에 따른 방법 및 장치를 적용할 수 있다.

전술한 설명에서 사용된 용어 및 표현은 설명을 위한 용어로서 사용한 것이며, 제한적인 것은 아니다. 그러한 용어 및 표현으로 나타내거나 기술한 특징의 어떠한 균등물 또는 그 일부를 배제하고자 의도한 것이 아니다. 그러나, 청구하고 있는 본원 발명의 범위내에서 채널 치수, 위치 및 배열과 같은 다양한 변경이 가능한 것으로 인식된다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

마이크로채널 내에서 물질의 일련의 극소량 용적 분할물(segment)을 형성하고 수송하는 방법으로서,

- a. 수송 유체 원에 연결된 유입구 말단 및 유체 저장기에 연결된 유출구 말단을 구비하는 제1 채널을 제공하는 단계;
- b. 분할 유체 원에 연결된 유입구 말단 및 상기 제1 채널과 연통하는 유출구 말단을 구비하는 제2 채널을 제공하는 단계;
- c. 분할 유체의 용적을 상기 제1 채널에 도입하는 단계;
- d. 상기 제1 채널 내에서 분할 유체 용적을 상기 유체 저장기 쪽으로 수송하는 단계; 및 그 후,
- e. 단계 c. 및 d.를 반복하여 상기 분할 유체의 일련의 분리 용적을 형성하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 분할 유체의 용적을 제1 채널내에 도입하는 단계가,

- a. 상기 제1 채널 내의 제1 채널 및 제2 채널의 유출구 말단들 사이의 위치에, 제1, 제2 및 제3 전기적 접촉부(electrical contact)를 제공하는 단계;
- b. 상기 제1 채널 내의 제1 채널의 유입구 말단 및 제2 채널의 유출구 말단 사이의 위치에, 제4, 제5 및 제6 전기적 접촉부를 제공하는 단계;
- c. 상기 제1 및 제2 전기적 접촉부를 가로질러 제1 전위를 인가하고, 상기 제4 및 제5 전기적 접촉부를 가로질러 제2 전위를 인가하는 단계(여기에서, 상기 제1 및 제2 전위는, 상기 분할 유체를 제1 채널에 도입하기 위하여, 상기 수송 유체의 흐름을 제1 채널 내에 도입하기에 효과적인 크기 및 극성을 가짐)를 포함하는 방법.

청구항 3.

제2항에 있어서,

- a. 상기 제4 및 제5 전기적 접촉부를 가로지르는 상기 제2 전위의 크기를 감소시키는 단계; 및
- b. 소정 분할 유체의 용적이 제1 채널내에 도입될 때까지, 상기 제1 및 제2 전기적 접촉부를 가로지르는 제1 전위의 크기 및 극성을 유지시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 4.

제3항에 있어서, 상기 제1 채널 내에서 분할 유체 용적을 수송하는 단계가,

- a. 상기 분할 유체 용적이 상기 제1 전기적 접촉부에 도달할 때까지, 상기 제1 및 제2 전기적 접촉부를 가로지르는 제1 전위를 유지시키면서, 상기 제5 및 제6 전기적 접촉부를 가로지르는 제3 전위를 인가하는 단계; 및 그 후,
- b. 상기 제2 및 제3 전기적 접촉부를 가로지르는 제4 전위를 인가함으로써 상기 분할 유체 용적을 제2 전기적 접촉부 쪽으로 수송하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 5.

제1항에 있어서, 분할 유체 용적의 연속 쌍 사이의 제1 채널 내로 시약 용적을 주입하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 6.

제5항에 있어서, 상기 시약을 주입하는 단계가,

- a. 시약 원과 연결된 유입구 말단 및 제1 채널과 연통하는 유출구 말단을 구비하는 제4 채널을 제공하는 단계;
- b. 제1 채널과 연통하는 유입구 말단을 구비하는 제5 채널을 제공하는 단계; 및
- c. 상기 제4 채널 및 제5 채널 사이에 전위를 인가하여 상기 시약 용적을 상기 제1 채널로 흐르게 하고, 상기 수송 유체를 상기 제5 채널로 흐르게 하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 7.

제5항에 있어서, 상기 시약을 상기 제1 채널에 주입하기 전에 시약의 농도를 희석시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 8.

제5항에 있어서, 상기 분할 유체 용적의 근접하지 않은 연속 쌍 사이에 복수의 시약 용적이 주입되도록, 상기 시약을 상기 제1 채널내에 주입하는 것을 반복하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 9.

제8항에 있어서, 상기 제1 채널을 따라 상기 주입된 복수의 시약 용적을 상기 유체 저장기 쪽으로 수송하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 10.

제9항에 있어서, 상기 시약 용적 중 선택된 하나를 분석을 위하여 회수할 수 있도록, 상기 주입된 복수의 시약 용적을 순차적으로 저장하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 11.

제10항에 있어서, 선택된 시약 용적을 저장기에서 회수하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 12.

제1항에 있어서, 상기 제1 채널 내 분할 유체 용적의 연속 쌍 사이에 반응 입자를 삽입시키는 단계를 포함하는 방법.

청구항 13.

제12항에 있어서, 상기 분할 유체 용적의 근접하지 않은 연속 쌍 사이에 복수의 반응 입자가 주입되도록, 상기 반응 입자를 상기 제1 채널내에 삽입하는 것을 반복하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 14.

제12항에 있어서, 상기 제1 채널을 따라 상기 복수의 반응 입자를 상기 유체 저장기 쪽으로 수송하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 15.

제14항에 있어서, 상기 반응 입자 중 선택된 하나를 분석을 위하여 회수할 수 있도록 상기 삽입된 복수의 반응 입자를 순차적으로 저장하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 16.

제10항에 있어서, 선택된 반응 입자를 저장기에서 회수하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 17.

물질의 일련의 극소량 용적 분할물을 형성하고 수송하는 장치로서,

그 안에 형성된 제1 및 제2 마이크로채널을 구비한 기판(여기에서, 상기 제1 마이크로채널은 수송 유체 원에 연결된 유입구 말단 및 유체 저장기에 연결된 유출구 말단을 구비하고, 상기 제2 마이크로채널은 분할 유체 원에 연결된 유입구 말단 및 상기 제1 마이크로채널과 연통하는 유출구 말단을 구비함);

상기 제1 마이크로채널 및 상기 제2 마이크로채널의 유출구 말단을 매개하는 위치의 제1 마이크로채널에 배치된 제1, 제2 및 제3 전기적 접촉부;

상기 제1 마이크로채널 및 상기 제2 마이크로채널의 유입구 말단을 매개하는 위치의 제1 마이크로채널에 배치된 제4, 제5 및 제6 전기적 접촉부; 및

(i)분할 유체 용적을 상기 제1 마이크로채널에 도입하고, (ii)그 분할 유체 용적을 제1 마이크로채널에 도입하는 것을 중단한 후, (iii)상기 제1 마이크로채널 내에서 상기 분할 유체 용적을 상기 유체 저장기 쪽으로 수송하기 위하여, 상기 전기적 접촉부의 근접 쌍을 가로지르는 전위를 순차적으로 인가하는 수단을 포함하는 장치.

청구항 18.

제17항에 있어서,

시약 원에 연결된 유입구 말단 및 제1 채널과 연통하는 유출구 말단을 구비하는 제4 채널;

제1 채널과 연통하는 유입구 말단을 구비하는 제5 채널; 및

분할 유체 용적의 연속 쌍 사이에 배치된 수송 유체가 상기 제5 채널내로 흐르도록, 상기 제1 채널 내의 분할 유체 용적의 연속 쌍 사이에 시약 용적을 주입하는 수단을 포함하는 장치.

청구항 19.

제18항에 있어서, 상기 시약 용적을 주입하기 위하여 상기 제4 채널 및 제5 채널 사이에 전위를 인가하는 수단을 포함하는 장치.

청구항 20.

제18항에 있어서, 상기 시약이 제1 채널내로 주입되는 경우에 그 시약을 회석시키기 위한 수단을 포함하는 장치.

청구항 21.

제19항에 있어서, 농도가 상이한 일련의 회석된 시약 용적을 제공하기 위하여 시약의 회석도를 변화시키는 수단 및 상기 제1 채널 내의 분할 유체 용적의 교대 쌍 내로 상기 각 용적을 주입하는 수단을 포함하는 장치.

청구항 22.

제18항에 있어서,

상기 제4 채널 및 유체 저장기 사이의 제1 채널을 따라 위치하는 추가의 전기적 접촉부; 및

상기 제1 채널을 따라 반응 용적을 상기 유체 저장기 쪽으로 수송하기 위한 추가의 전기적 접촉부의 각 쌍들 사이에 전위를 인가하는 수단을 포함하는 장치.

청구항 23.

제18항에 있어서, 상기 제1 채널이 분할 유체 용적의 교대 쌍 사이에 배치된 복수의 상기 회석된 시약 용적을 보유하기 위한 루프를 포함하는 장치.

청구항 24.

제17항에 있어서,

유체 매질 중에 현탁된 반응 입자 원에 연결된 유입구 말단 및 제1 채널과 연통하는 유출구 말단을 구비하는 제4 채널 ;

제1 채널과 연통하는 유입구 말단을 구비하는 제5 채널; 및

분할 유체 용적의 연속 쌍 사이에 배치된 수송 유체가 상기 제5 채널내로 흐르도록, 상기 제1 채널 내 분할 유체 용적의 연속 쌍 사이에 유체 매질에 현탁된 반응 입자를 주입하는 수단을 포함하는 장치.

청구항 25.

제20항에 있어서, 상기 반응 입자를 함유하는 유체 매질 용적은 상기 제1 채널 내로 흐르도록 하고, 상기 수송 유체는 상기 제5 채널 내로 흐르도록 하기 위하여, 상기 제4 채널 및 제5 채널 사이에 전위를 인가하는 수단을 포함하는 장치.

청구항 26.

제20항에 있어서, 반응 입자의 질 또는 특성에 따라 그 반응 입자를 분류하는 수단 및 상기 제1 채널 내 분할 유체 용적의 연속 쌍 사이에 각각의 반응 입자를 주입하는 수단을 포함하는 장치.

청구항 27.

제22항에 있어서, 상기 제1 채널 내 분할 유체 용적의 교대 쌍 사이에 반응 입자가 삽입되도록, 각 반응 입자의 주입을 조절하는 수단을 포함하는 장치.

청구항 28.

제23항에 있어서,

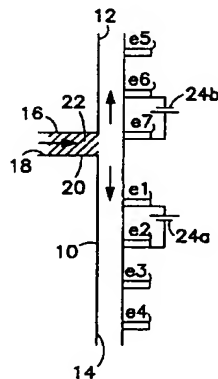
제4 채널 및 유체 저장기 사이의 제1 채널을 따라 위치하는 추가의 전기적 접촉부; 및

상기 제1 채널을 따라 분할 유체 용적을 상기 유체 저장기 쪽으로 수송하기 위하여, 상기 추가의 전기 접촉부의 각 쌍 사이에 전위를 인가하는 수단을 포함하는 장치.

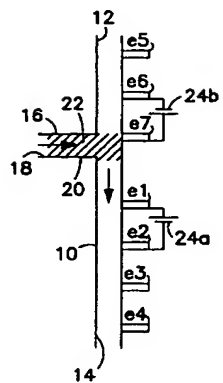
청구항 29.

제18항에 있어서, 상기 제1 채널이 분할 유체 용적의 교대 쌍 사이에 배치된 상기 복수의 반응 입자를 보유하기 위한 루프를 포함하는 장치.

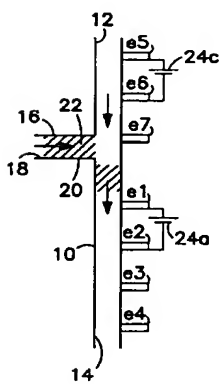
도면 1a



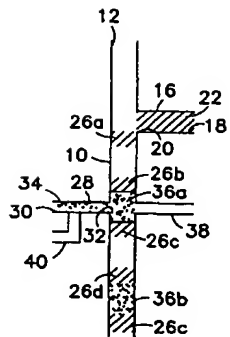
도면 1b



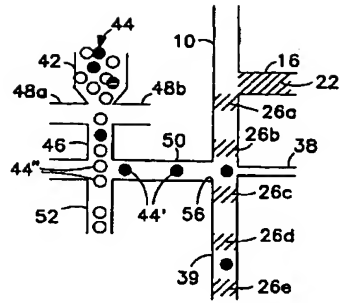
도면 1c



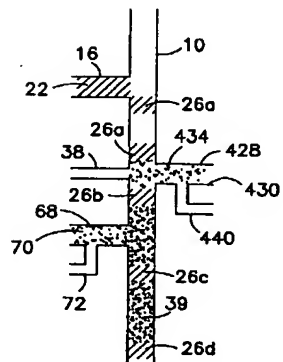
도면 2



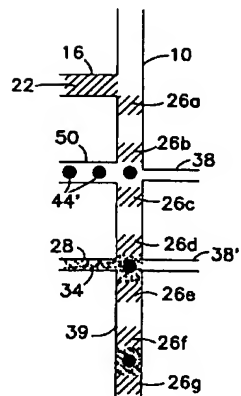
도면 3



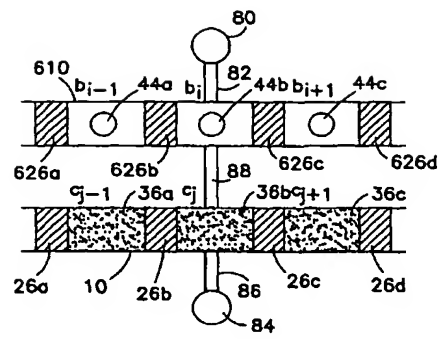
도면 4



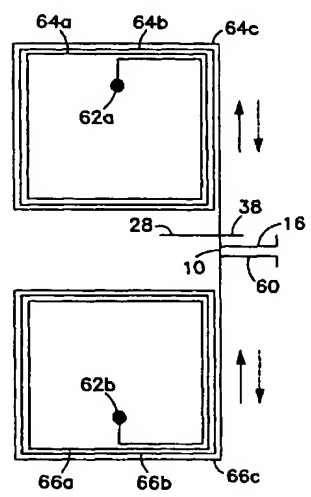
도면 5



도면 6



도면 7



도면 8

